番荔枝内酯化合物布拉它辛对斜纹夜蛾的杀虫活性及对 SL 细胞的致凋亡作用

崔江虎[1]，吴　萍[2]，魏孝义[2]，张志祥[1]，徐汉虹[1,*]

(1. 天然农药与化学生物学教育部重点实验室/华南农业大学昆虫毒理研究室，广州 510642；2. 中国科学院华南植物园，广州 510650)

摘要：为了明确番荔枝内酯化合物布拉它辛的杀虫活性和探索杀虫作用机理，本研究采用浸叶法测定该化合物对斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 幼虫的生物活性，采用 MTT 检测法和流式细胞术，研究该化合物对斜纹夜蛾离体培养卵巢细胞(SL 细胞)的细胞毒力和致细胞凋亡作用，以及对 SL 细胞线粒体膜电位的影响。结果表明：布拉它辛不仅对斜纹夜蛾幼虫具有良好的拒食活性，处理后 24 h，对 2 龄和 3 龄幼虫的 AFC_{50} 值分别为 60.25 μg/mL 和 86.73 μg/mL，还对幼虫生长有良好的抑制作用。布拉它辛处理 SL 细胞后 24 h 和 48 h，IC_{50} 值分别为 22.32 μg/mL 和 10.03 μg/mL。流式细胞仪检测结果表明，布拉它辛对 SL 细胞具有明显的致凋亡作用，可导致 SL 细胞线粒体膜电位显著下降。本研究表明布拉它辛对斜纹夜蛾幼虫具有良好的拒食活性与生长抑制作用，并且该化合物能明显抑制 SL 细胞的增殖，诱导细胞凋亡，降低线粒体膜电位。因此，布拉他辛具有广阔的研究应用前景。

关键词：斜纹夜蛾；布拉它辛；卵巢细胞；SL 细胞；拒食活性；细胞凋亡

中图分类号：Q965.9　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2010)04-0391-05

Insecticidal activity of bullatacin against *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) and the induced apoptosis to SL cells

CUI Jiang-Hu[1], WU Ping[2], WEI Xiao-Yi[2], ZHANG Zhi-Xiang[1], XU Han-Hong[1,*] (1. Key Laboratory of Natural Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education/Laboratory of Insect Toxicology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: In order to ascertain the insecticidal activity and probe into the insecticidal mechanism about bullatacin, we studied the biological activity against *Spodoptera litura* larvae by bullatacin with leaf feeding method, and observed the cytotoxicity to *S. litura* ovary cells (SL cells) using MTT method. Meanwhile, we detected cell apoptosis and the change of mitochondrial membrane potential of SL cells by flow cytometer. The results indicated that bullatacin had the antifeedant activity against the 2nd and 3rd instar larvae of *S. litura*. The AFC_{50} values were 60.25 μg/mL and 86.73 μg/mL, respectively. This compound also had strong inhibitive activity on the growth of *S. litura* larvae. The IC_{50} values on SL cells at 24 and 48 h post treatment were 22.32 μg/mL and 10.03 μg/mL, respectively. Observations by flow cytometer showed that bullatacin induced apoptosis and the decrease of mitochondrial membrane potential in SL cells. The results suggest that bullatacin possesses the antifeedant activity and has strong inhibitive activity on the growth of *S. litura* larvae. In addition, it can inhibit the proliferation, induce the cell apoptosis and decrease the mitochondrial membrane potential in SL cells. Therefore, bullatacin has a good research and application prospect.

Key words: *Spodoptera litura*; bullatacin; ovary cell; SL cell; antifeedant activity; cell apoptosis

番荔枝科植物分布于美国热带地区、非洲、东南亚和我国南方地区，多为乔木或灌木，共约 120 余属，2 100 余种，我国有 24 属 103 种，分布于广东、广西、海南等南方地区。其杀虫活性成分主要是番荔枝内酯，番荔枝内酯是一类长链脂肪酸衍生物，结构中通常有一个末端 α，β-不饱和 γ-内酯环及 1 ~ 2 个四氢呋喃环(Alali *et al.*, 1999)。Jolad 等(1982)从根部提取物中分离得到第一个番荔枝内

基金项目：中国科学院创新工程方向性项目(KSCX2-YW-G-038-3)

作者简介：崔江虎，男，湖南邵阳人，硕士研究生，从事农药学和昆虫毒理学研究，E-mail: lantian9426@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, Tel: 020-85285127; E-mail: hhxu@scau.edu.cn

收稿日期 Received: 2009-12-29; 接受日期 Accepted: 2010-02-18

酯化合物 uvaricin，20 多年来，已从41 属150 种植物中分离得到近400 个番荔枝内酯化合物，番荔枝内酯在细胞毒性、抗肿瘤、杀虫等方面都具有显著的生物活性(Cortes *et al.*, 1993)。

He 等(1997)测定了44 种番荔枝内酯化合物对埃及伊蚊幼虫的室内毒力，发现大多数化合物对埃及伊蚊的 LC_{50} 值小于 50 μg/mL，其中布拉它辛(bullatacin)(图1)对埃及伊蚊的毒杀活性明显高于鱼藤酮。目前，对布拉它辛的研究主要集中在肿瘤细胞方面，而对其杀虫活性尚未进行系统研究。为了明确该化合物的杀虫活性并探索其杀虫作用机理，本研究以斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 幼虫和斜纹夜蛾离体培养卵巢细胞(SL 细胞)为对象，测定了该化合物对斜纹夜蛾的拒食和生长发育抑制作用，对 SL 细胞的增殖抑制作用，以及致细胞凋亡作用和线粒体膜电位的影响，为该化合物进一步研究提供理论依据。

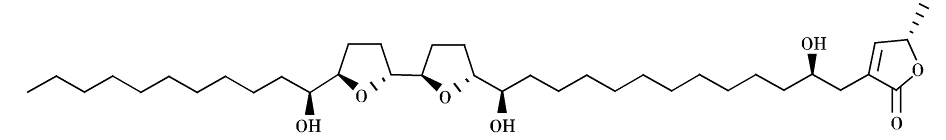


图1 布拉它辛的化学结构

Fig. 1 The chemical structure of bullatacin

1 材料与方法

1.1 供试药剂及仪器

95% 布拉它辛原药(中国科学院华南植物园从番荔枝种子中分离得到)；98 % 鱼藤酮晶体、MTT [3-(4，5 二甲基噻唑)-2，5 二苯基四氮唑] 和 Rhodamin 123（美国 Sigma-Aldrich 公司）；二甲基亚砜(DMSO)（Amresco 公司）；AnnexinV-FITC/PI 细胞凋亡检测盒(南京凯基生物科技发展有限公司)；培养基(GIBCO 公司)；95% 印楝素原药(华南农业大学天然农药与化学生物学教育部重点实验室分离)。

GH80-2 型低速离心机（湖南湘仪离心机仪器有限公司)；FACS Calibur 流式细胞仪(美国 Becton Dickison 公司)；DG-3022 型酶联免疫检测仪(上海国营华东电子管厂)。

1.2 供试生物

SL 细胞系：斜纹夜蛾离体培养卵巢细胞，由华南农业大学天然农药与化学生物学教育部重点实验室传代培养。昆虫培养基添加10% 的新生牛血清，28℃恒温培养。

斜纹夜蛾：从华南农业大学试验农场芋头叶上采集卵块，低龄幼虫用芋头叶饲养，高龄幼虫用新鲜木薯叶养，成虫羽化后以10% 蜂蜜水饲养，选取大小一致的 F1 代幼虫供试。

1.3 对斜纹夜蛾幼虫拒食活性测定

参考张志祥等(2007)方法。选取新鲜洁净木薯叶片，用打孔器打成直径2 cm 的叶碟，将叶碟浸入待测药液中2 s，取出晾干后，放入垫有保湿滤纸的培养皿中。每皿接入1 头已饥饿4 h 的2 龄，或3 龄幼虫，每处理重复10 次，24 h 后用叶面积测定仪调查取食情况。

拒食率(AFI%) =

$$\frac{对照组取食叶面积-处理组取食叶面积}{对照组取食叶面积}\times 100$$

1.4 对斜纹夜蛾幼虫生长发育抑制活性测定

参考张志祥等(2007)方法。药剂配制及叶碟处理方法同1.3。每皿放入1 头斜纹夜蛾3 龄幼虫，每处理10 个重复。48 h 后换新鲜无毒叶片饲喂72 h。处理前和处理后5 d 称量幼虫体重，按下式计算试虫体重增长抑制率。

体重增长抑制率(%) =

$$\frac{对照组平均增重-处理组平均增重}{对照组平均增重}\times 100$$

1.5 布拉它辛对 SL 细胞增殖抑制作用研究

参照张卓然(2004)方法。取对数生长期的 SL 细胞，细胞量为 1×10^6 个/mL，接种96 孔细胞培养板，每孔各加入100 μL 细胞悬液，培养24 h 后加入不同浓度的番荔枝内酯药液，对照组加等量的溶剂(DMSO)，每个浓度组加4 个孔。置于28℃培养箱下培养20 h，再加入浓度为5 mg/mL 的 MTT 溶液，继续反应4 h，弃去含药培养液，PBS 洗涤1 次，于各孔中加入助溶剂酸化异丙醇，混匀至活细胞与 MTT 形成的紫色结晶完全溶解后，置于 ELISA 仪上，490 nm 下读取 OD 值(参考波长为490 nm)，以 OD_{490} 作为细胞增殖的指标。每处理设3 个重复，按下式计算细胞毒性：

细胞增殖抑制率(%) =

$$\frac{\text{对照组 } OD_{490}\text{平均值} - \text{处理组 } OD_{490}\text{平均值}}{\text{对照组 } OD_{490}\text{平均值}} \times 100$$

1.6　布拉它辛对 SL 细胞的致细胞凋作用研究

参考王玉芳等(2007)方法。取对数生长期的细胞接种于直径为 60 mm 塑料培养皿中，用 DMSO 溶解化合物，再用培养基稀释至供试浓度，将含药培养基加入至培养皿中，置于细胞培养箱培养 48 h，然后离心收集细胞，用 4℃ 预冷的 PBS 缓冲液，洗涤细胞 2 次，然后用结合缓冲液重悬细胞。取 100 μL 细胞悬液，加入 5 μL Annexin V-FITC 和 10 μL 碘化丙锭(PI，20 mg/L)溶液，混匀后室温避光孵育 15 min，再加入 400 μL 结合缓冲液，采用流式细胞仪 CellQuest 软件分析。每处理设 3 个重复，对照处理为含 0.1% DMSO 的培养基。

1.7　布拉它辛对 SL 细胞线粒体膜电位的影响

参照 Satoh 等(1997)方法。获取 SL 细胞接种于直径为 60 mm 塑料培养皿中，用 DMSO 溶解布拉它辛和鱼藤酮，用培养基稀释药液，使其终浓度为 10 μg/mL 和 5 μg/mL，然后将含有药液的培养基加入培养皿，对照处理为含 0.1% DMSO 的培养基，置于细胞培养箱培养，48 h 后收集细胞，PBS 缓冲液洗涤 2 次，加入 Rhodamin 123 母液，37℃ 避光孵育 30 min，PBS 洗涤 2 次，流式细胞仪(激发光波长 488 nm，FL1 通道)检测，CellQuest 软件分析结果。Rhodamin 123 平均荧光强度(MIF)代表细胞内线粒体膜电位值，每处理设 3 个重复。

2　结果与分析

2.1　布拉它辛对斜纹夜蛾幼虫的拒食活性

从表 1 中可以看出，布拉它辛对斜纹夜蛾幼虫具有良好的拒食活性，处理 24 h 后，布拉它辛对斜纹夜蛾 2 龄和 3 龄幼虫的拒食中浓度(AFC_{50})分别为 60.25 μg/mL 和 86.73 μg/mL。

2.2　布拉它辛对斜纹夜蛾幼虫生长发育抑制作用

从图 2 中可以看出，布拉它辛对斜纹夜蛾幼虫具有明显的生长发育抑制作用，100 μg/mL 和 200 μg/mL 布拉它辛处理斜纹夜蛾 3 龄幼虫后 5 d，试虫平均体重分别为 0.3491 ± 0.0185 g 和 0.2109 ± 0.0134 g，而对照处理的体重为 0.4978 ± 0.0185 g，对试虫体重增长抑制率分别为 29.86% 和 57.63%，药剂处理与对照差异显著，并且随着浓度的增加，抑制作用显著增强。

表 1　布拉它辛对斜纹夜蛾幼虫的拒食活性(处理后 24 h)

Table 1　Antifeedant activity against *Spodoptera litura* larvae by bullatacin (24 h post treatment)

化合物 Compound	幼虫龄期 Larval instar	毒力回归方程 Toxicity regression equation	AFC_{50}(μg/mL) (95% CI)
布拉它辛 Bullatacin	2 龄 2nd instar	$y = 2.6162 + 1.3393x$	60.25 (49.09 – 73.93)
	3 龄 3rd instar	$y = 3.1645 + 0.9470x$	86.73 (62.98 – 119.41)
印楝素 Azadirachtin	2 龄 2nd instar	$y = 4.3970 + 0.9491x$	4.32 (3.14 – 5.94)
	3 龄 2nd instar	$y = 4.3963 + 0.6971x$	7.34 (4.38 – 12.91)

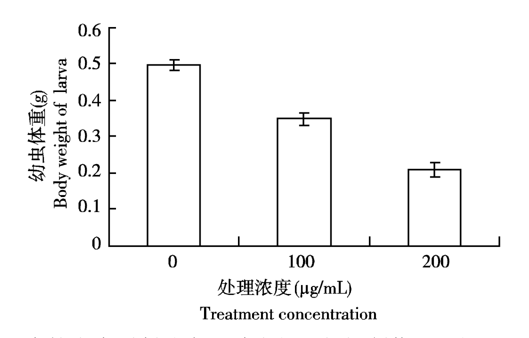


图 2　布拉它辛对斜纹夜蛾幼虫的生长抑制作用(处理后 5 d)

Fig. 2　Inhibitive activity on the development of *Spodoptera litura* larvae by bullatacin (5 d post treatment)

试验初始时，试虫为 3 龄幼虫。The insect was at the 3rd instar at the beginning of the experiment.

2.3　布拉它辛对 SL 细胞的增殖抑制作用

从表 2 中可以看出，布拉它辛对 SL 细胞具有良好的抑制活性，处理后 24 h 和 48 h，对 SL 细胞的 IC_{50}值分别为 22.32 μg/mL 和 10.03 μg/mL，处理 24 h 后，对 SL 细胞的毒力明显高于鱼藤酮，处理 48h 后，对 SL 细胞的毒力与鱼藤酮相当。以上结果表明，随着处理浓度和处理时间的增加，布拉它辛对 SL 细胞的抑制活性增强。

表 2　布拉它辛对 SL 细胞增殖抑制作用

Table 2　Inhibitive activity of proliferation on SL cells by bullatacin

处理 Treatment	处理时间 Time (h)	毒力回归方程 Toxicity regression equation	IC_{50}值(μg/mL) (95% CI)
鱼藤酮 Rotenone	24	$y = 0.3438 + 2.9415x$	38.28 (32.44 – 45.17)
布拉它辛 Bullatacin	24	$y = 0.6503 + 3.2253x$	22.32 (16.07 – 30.98)
鱼藤酮 Rotenone	48	$y = 4.0176 + 0.9771x$	10.12 (5.82 – 17.63)
布拉它辛 Bullatacin	48	$y = 3.2350 + 1.7629x$	10.03 (7.27 – 13.84)

2.4 布拉它辛对 SL 细胞的致细胞凋亡作用

从图 3 可以表明，布拉它辛对 SL 细胞具有明显的致细胞凋亡作用，5 μg/mL 和 10 μg/mL 布拉它辛处理 48 h 后，SL 细胞早期凋亡率分别为 8.28% 和 14.03%，而对照的凋亡率为 0.25%。随着布拉它辛浓度增加，细胞凋亡率增加。SL 细胞早期凋亡率分别为 15.79% 和 32.03%，而对照的凋亡率为 0.82%。据此可以判断，布拉它辛一开始引起 SL 细胞前期凋亡，随着药物作用时间的延长，细胞开始进入细胞凋亡晚期，最终引起细胞坏死或死亡。

2.5 布拉它辛对 SL 细胞线粒体膜电位的影响

线粒体膜电位是由于线粒体内膜两侧质子及其他离子不对称分布造成的，膜电位下降是细胞凋亡过程中一个不可逆的过程和主要特征，从图 4 中可以看出，试验剂量下处理 24 h 和 48 h 后，荧光峰向左移动，即朝荧光强度减少的方向移动，布拉它辛和鱼藤酮都可以明显降低 SL 细胞内平均荧光强度(MIF)，这表明布拉它辛和鱼藤酮均能明显降低 SL 细胞线粒体膜电位。5 μg/mL 和 10 μg/mL 布拉它辛处理 SL 细胞 48 h 后，可以明显降低细胞线粒体膜电位，胞内 MIF 平均值分别为 34.54 ± 0.29 和 24.76 ± 0.09，5 μg/mL；10 μg/mL 鱼藤酮处理 SL 细胞后，胞内 MIF 值分别为 40.35 ± 0.15 和 51.24 ± 0.11；而 CK 处理后，胞内 MIF 平均值为 70.49 ± 0.12。5 μg/mL 和 10 μg/mL 布拉它辛和鱼藤酮处理 SL 细胞后 48 h，MIF 降低率分别为 51.00%，64.87%，27.31% 和 42.76%。同等浓度下，布拉它辛对 SL 细胞线粒体膜电位的影响显著高于鱼藤酮。

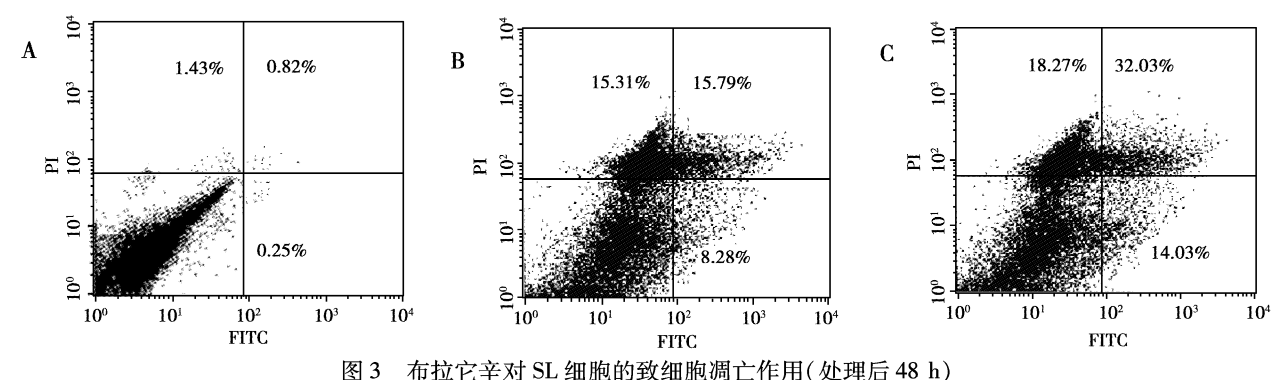


图 3 布拉它辛对 SL 细胞的致细胞凋亡作用(处理后 48 h)

Fig. 3 Induced apoptosis on SL cells by bullatacin (48 h post treatment)

A: 对照 Control; B: 布拉它辛 Bullatacin, 5 μg/mL; C: 布拉它辛 Bullatacin, 10 μg/mL. 左下象限 Left low quadrant: 活细胞 Live cells; 右下象限 Right low quadrant: 早期/初级凋亡细胞 Early primary apoptotic cells; 左上象限 Left upper quadrant: 晚期次级凋亡细胞 Late secondary apoptotic cells; 右上象限 Right upper quadrant: 坏死细胞 Necrotic cells.

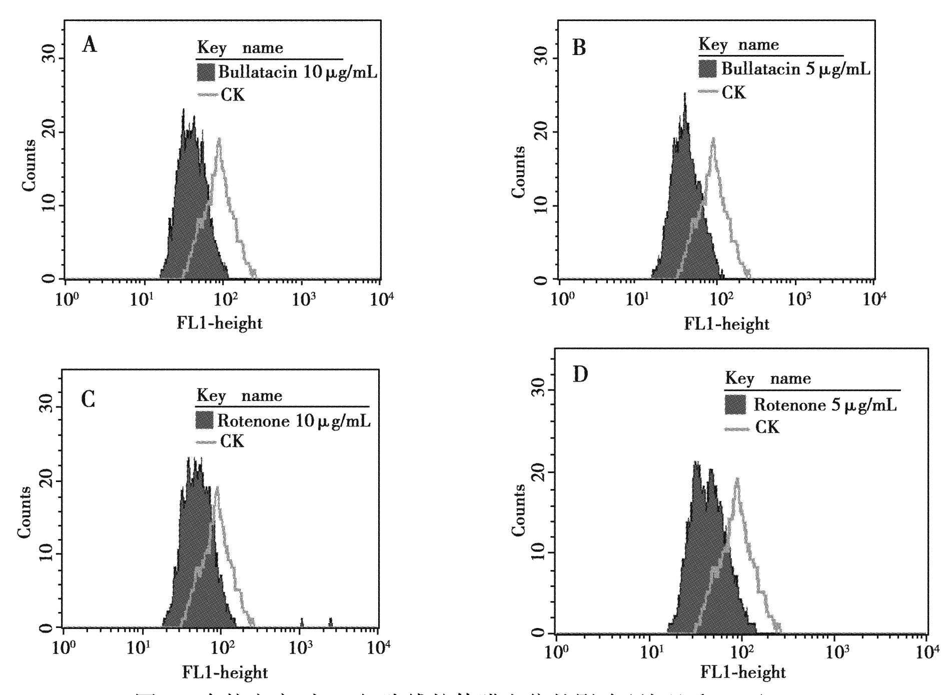


图 4 布拉它辛对 SL 细胞线粒体膜电位的影响(处理后 48 h)

Fig. 4 Mitochondrial membrane potential change of SL cells by bullatacin (48 h post treatment)

3　讨论

从本研究结果可以看出，布拉它辛对斜纹夜蛾幼虫具有良好的拒食活性及生长发育抑制作用，对 SL 细胞具有良好的增殖抑制作用。

Zafra-Polo 等(1996)研究了天然番荔枝内酯对肿瘤细胞的毒性，认为番荔枝内酯是线粒体复合物Ⅰ抑制剂。朱孝峰等(2002)研究表明，番荔枝内酯化合物 squamocin 通过激活 caspase-3 酶，诱导白血细胞产生凋亡作用。这些报道对于布拉它辛的作用机理具有良好的参考意义，但并未阐明该化合物的作用机理。本研究首次系统应用流式细胞术，明确了布拉它辛对 SL 细胞的致细胞凋亡作用，深入研究阐述了布拉它辛对昆虫的作用机理。线粒体是细胞能量代谢的重要场所，氧化磷酸化反应是 ATP 的主要来源，在细胞凋亡和信号转导的发生过程中起着非常重要的作用。在线粒体内外膜交界处，存在膜渗透性转换通道(PTP)，药物处理引起 PTP 开放，从而导致线粒体膜电位下降，呼吸链断裂，诱导细胞凋亡和死亡，线粒体膜电位下降是细胞凋亡的主要特征(吴晓华等，2009)。本研究表明，布拉它辛处理 SL 细胞后，诱导细胞凋亡，在凋亡信号的刺激下，线粒体的膜电位会丢失，其具体途径有待于进一步研究。

布拉它辛是番荔枝的活性成分，结构中含有一个末端 α，β-不饱和 γ-内酯环及 2 个四氢呋喃环，Sinha 等(1995)通过一系列化学反应成功仿生合成，并且合成路线简单。因此，可以通过化学仿生合成，进行结构修饰和先导优化，可能使布拉它辛成为新的杀虫活性先导化合物，对开发具有自主知识产权的新型植物源杀虫剂，具有重要的意义。

本研究表明，番荔枝内酯化合物对斜纹夜蛾幼虫具有良好的拒食活性与生长抑制作用，可明显抑制 SL 细胞的增殖，诱导细胞凋亡，降低线粒体膜电位。因此，布拉它辛对于研制新农药具有重要的参考价值，并具有广阔的研究应用前景。

参考文献(References)

Alali FQ, Liu XX, McLaughlin JL, 1999. Annonaceous acetogenins: Recent progress. *Journal of Natural Products*, 62: 504 – 540.

Cortes D, Myint S, Dupont B, Davoust D, 1993. Bioactive acetogenins from seeds of *Annona cherimolia*. *Phytochemistry*, 32: 1 475 – 1 482.

He K, Zeng L, Ye Q, Shi G, Oberlies NH, Zhao GX, Njoku CJ, McLaughlin JL, 1997. Comparative SAR evaluations of annonaceous acetogenins for pesticidal activity. *Pesticide Science*, 49: 372 – 378.

Jolad SD, Hoffmann JJ, Schram KH, 1982. Uvaricin, a new antitumor agent from *Uvaria accuminata* (Annonaceae). *The Journal of Organic Chemistry*, 47(16): 3 151 – 3 153.

Satoh T, Enokido Y, Aoshima H, Uchiyama Y, Hatanaka H, 1997. Changes in mitochondrial membrane potential during oxidative stress-induced apoptosis in PC12 cells. *Journal of Neuroscience Research*, 50(3): 413 – 420.

Sinha SC, Sinha-Bagchi A, Yazbak A, Keinan E, 1995. Modular approach to *Annonaceous acetogenins*. Total synthesis of asimicin and bullatacin. *Tetrahedron Letters*, 36(51): 9 257 – 9 260.

Wang YF, Zhuge HX, Zhou X, Huang LH, 2007. Cytotoxicity and apoptosis on C6/36 cell produced by piperine. *Acta Entomologica Sinica*, 50(5): 481 – 487. [王玉芳，诸葛洪祥，周霞，黄利红，2007. 胡椒碱对白纹伊蚊 C6/36 细胞株的毒性作用. 昆虫学报，50(5): 481 – 487]

Wu XH, Zhou SW, Chen NN, Xiang Y, Zhang C, Huang SL, 2009. Effect of psorake combined with UVA mittochondrial membrane potential during apptosis in K562 and NB4 cells. *Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine*, 18(9): 1 481 – 1 482. [吴晓华，周思维，陈楠楠，向阳，张晨，黄世林，2009. 中药补骨脂素联合长波紫外线诱导 K562、NB4 细胞凋亡时对线粒体膜电位的影响. 中国中医急症，18(9): 1 481 – 1 482]

Zafra-Polo MC, Gonzalez MC, Estornell E, Sahpaz S, Cortes D, 1996. Acetogenins from annonaceae, inhibitors of mitochondrial complex I. *Phytochemistry*, 42(2): 253 – 258

Zhang ZR, 2004. Cytology and Cell Culture Technology. Shanghai Science and Technology Press, Shanghai. 423 – 433. [张卓然，2004. 培养细胞学与细胞培养技术. 上海：上海科学技术出版社. 423 – 433]

Zhang ZX, Cheng DM, Xu HH, Wu YL, Yin BL, Chen L, Yang XY, 2007. Toxicity of 2 kinds of hydro-azdirachtin against insects. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 26(1): 182 – 185. [张志祥，程东美，徐汉虹，吴毓林，尹标林，陈立，杨晓云，2007. 2 种印楝素 A 氢化加成产物对昆虫的毒杀作用. 华中农业大学学报，26(1): 182 – 185]

Zhu XF, Liu ZC, Xie BF, Li ZM, Feng GK, Xie HH, Wu SJ, Yang RZ, Wei XY, Zeng YX, 2002. Involvement of caspase-3 activation in squamocin induced apoptosis in leukemia cell line HL-60. *Life Sciences*, 70: 1 259 – 1 269.

(责任编辑：赵利辉)

黄荆中 β-石竹烯对棉蚜的毒力和作用机理

刘雨晴[1]，薛　明[1,*]，张庆臣[1]，周方园[1]，尉吉乾[2]
（1. 山东农业大学植保学院，山东泰安 271018；2. 杭州市植保土肥总站，杭州 310020）

摘要：为明确泰山野生黄荆 *Vitex negundo* 种子中的有效杀虫活性成分、杀虫作用及其毒理机制，本研究采用硅胶柱层析，GC-MS 技术和生物活性追踪方法，测定了泰山黄荆种子中的杀虫活性成分；采用生物测定和生化分析法，研究了黄荆中的 β-石竹烯和 α-蒎烯对棉蚜 *Aphis gossypii* 的毒力及作用机制。结果表明：通过三级柱层析从黄荆中分离得到对棉蚜毒力高的馏分 β-石竹烯和 α-蒎烯，其含量分别达 7.68% 和 5.45%。β-石竹烯和 α-蒎烯对棉蚜的触杀毒力都较高，并以 β-石竹烯的毒力最高，LD_{50} 为 0.65×10^{-1} μg/头。β-石竹烯和 α-蒎烯对棉蚜均具有强烈的忌避作用，处理棉蚜 24 h 的 AFC_{50} 分别为 0.80×10^{3} 和 0.89×10^{3} mg/L，其中也以 β-石竹烯的忌避毒力最大。β-石竹烯和 α-蒎烯以亚致死剂量处理棉蚜，对其繁殖力、排蜜频率和排蜜量均有显著不利影响。β-石竹烯和 α-蒎烯处理棉蚜或离体酶，对乙酰胆碱酯酶、多酚氧化酶、羧酸酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶都有明显抑制作用。结果显示 β-石竹烯和 α-蒎烯是黄荆种子提取物中的重要杀虫活性成分，并且其致毒机制存在多样性，开发应用价值大。

关键词：黄荆；棉蚜；β-石竹烯；α-蒎烯；毒力；杀虫机理
中图分类号：Q965.9　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2010)04-0396-09

Toxicity of β-caryophyllene from *Vitex negundo* (Lamiales: Verbenaceae) to *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) and its action mechanism

LIU Yu-Qing[1], XUE Ming[1,*], ZHANG Qing-Chen[1], ZHOU Fang-Yuan[1], WEI Ji-Qian[2] (1. Department of Entomology, College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2. Soil and Fertilizer Plant Protection Station of Hangzhou, Hangzhou 310020, China)

Abstract: To explore the insecticidal active constituents, toxic effects and toxicological mechanisms of *Vitex negundo* L. from Taishan Mountain, we investigated the insecticidal components of *V. negundo* weed seed extract utilizing silica gel column chromatography, GC-MS technology and biological activity tracking, and the toxicity and action mechanism of β-caryophyllene and α-pinene, isolated from *V. negundo* weed seed extract, against cotton aphid *Aphis gossypii* using bioassay and biochemical analysis. The results showed that β-caryophyllene and α-pinene with high toxic effect against *A. gossypii* were isolated from *V. negundo* weed seed extract by silica gel column chromatography repeatedly, with their contents as high as 7.68% and 5.45%, respectively. The contact toxicities of β-caryophyllene and α-pinene against *A. gossypii* were all obvious, and the higher one was β-caryophyllene whose LD_{50} reached 0.65×10^{-1} μg per individual. We also found strong repellent effect of β-caryophyllene and α-pinene against *A. gossypii*, with their AFC_{50} values being 0.80×10^{3} and 0.89×10^{3} mg/L, respectively, 24 h after treatment. At the sublethal dose, they had significant adverse effects on the fertility, honeydew excretion frequency and honeydew production of the aphid. *In vitro* and *in vivo* conditions, β-caryophyllene and α-pinene distinctly inhibited the activities of acetylcholine esterase, polyphenol oxidase, carboxylesterase and glutathione S-tramsferases in *A. gossypii*. The results suggest that β-caryophyllene and α-pinene are important insecticidal compounds of *V. negundo*, and their action mechanisms show the characteristics of diversity. Therefore, they are worthy of further exploitation and application.

Key words: *Vitex negundo*; *Aphis gossypii*; β-caryophyllene; α-pinene; toxicity; action mechanism

基金项目：山东省自然科学基金项目(Y2006D13)；山东省教育厅项目(J04C06)
作者简介：刘雨晴，女，1981 年 2 月生，山东巨野人，博士研究生，主要从事害虫综合治理方向的研究，E-mail：myjoe00@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail：xueming@sdau.edu.cn
收稿日期 Received：2009-11-01；接受日期 Accepted：2010-03-29